

令和 6 年 6 月 18 日現在

機関番号：13501

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K19538

研究課題名（和文）アンドロゲンシグナルを介した雌性新規疼痛制御メカニズムの解明

研究課題名（英文）Role of androgen for sexually dimorphic neuropathic pain

研究代表者

鈴木 堅太郎（Suzuki, Kentaro）

山梨大学・大学院総合研究部・教授

研究者番号：20404345

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：痛みの閾値には性差があり、慢性疼痛は性差を示す代表的な疾患である。これまでの科学研究は基礎・臨床ともに簡略化が優先され、男性（雄）を優先して推し進められてきた。その結果、女性における痛みの調節機構、慢性疼痛の分子基盤の理解は男性と比較して大きく遅れている。本研究は痛み制御に関わる細胞特異的なアンドロゲンレセプター（AR）ノックアウトマウスを作製し、坐骨神経結紮による神経障害性疼痛モデルの解析から、アンドロゲンシグナルが疼痛制御に関わる可能性を見出した。マウス脊髄組織を用いてRNA-seq解析を行い、アンドロゲンの下流で機能する痛み制御因子を同定することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

女性は痛みが強いと一般的に言われているが、ヒトやマウスを用いた研究から、女性は男性よりも痛みが敏感であることが認識されつつある。真に男女が平等に活躍できる社会を実現するためには、女性の痛みの発症機序を理解し、性特異的な疼痛治療を確立することが不可欠である。本研究からアンドロゲンの有無もしくは量の違いが、慢性疼痛の性差を形成する基盤である可能性を示唆することができた。これまで雌におけるアンドロゲンの効果に注目した研究は少なく、本研究結果は従来の基礎医学・薬学研究に存在する雌雄間のエビデンスの偏りを是正する必要性を明確化し、性差を念頭に置いた研究の必要性を実証することができた。

研究成果の概要（英文）：There are gender differences in pain thresholds, and chronic pain is a representative disease that exhibits gender differences. Scientific research to date has prioritized simplification, and has been conducted preferentially in men (males). As a result, our understanding of the molecular mechanisms of pain regulation and chronic pain in women behinds far compared with men. This study generated cell-specific androgen receptor (AR) knockout mice involved in pain regulation and found that androgen signaling is involved in pain regulation base on analysis of a model of neuropathic pain induced by sciatic nerve ligation. RNA-seq analysis using mouse spinal cord tissue allowed us to identify pain regulators that function under the androgen signaling.

研究分野：性差発生医学

キーワード：性差 アンドロゲン アンドロゲンレセプター 慢性疼痛 神経障害性疼痛 ライプセルイメージング

1. 研究開始当初の背景

痛みに対する感受性には性差がある。また女性は出産など性特有のライフイベントを有することに加え、片頭痛、関節リウマチ、および線維筋痛症などの強い痛みを伴う疾患の罹患率が男性よりも高い。それにもかかわらず、従来、痛みの研究は主に雄マウスを用いて行われており、女性における痛みの調節機構、慢性疼痛の分子基盤についての理解は男性と比較して大きく遅れている。実臨床においても、痛みを伴う種々の疾患には性差があると認識されているものの、現状では性別に基づいた治療方法は全くない。

2. 研究の目的

神経障害性疼痛などの慢性疼痛には、神経免疫機構の関与が重要視されている。我々はアンドロゲン(男性ホルモン)を投与すると、脊髄グリア細胞の活性化が雌マウスにおいて抑制されることを世界で初めて見出し、アンドロゲンを補充することで女性の痛みを緩和できると考えた。本研究の目的は、従来の疼痛治療薬の研究開発において見過ごされてきた痛みの性差に着目し、女性におけるグリア細胞を軸とした新規疼痛制御メカニズムを解明することである。

3. 研究の方法

1) アンドロゲンによる疼痛抑制作用の評価

雌の神経障害性疼痛モデルマウスにおける脊髄グリア細胞の活性化は、アンドロゲンを投与すると著しく抑制された。種々の慢性疼痛モデルマウスにアンドロゲンを全身または脊髄くも膜下腔内投与し、疼痛抑制作用を行動解析(機械的刺激および熱刺激)、組織化学的解析(c-fosおよびリン酸化MAPK)や電気生理学的解析によって評価した。

2) 痛みを可視化する新規ライブイメージングシステムの確立

神経障害性疼痛モデルマウスの脊髄後角でニューロンおよびアストロサイトと隣接するミクログリアが認められ、ニューロン・グリア間の直接的相互作用と慢性疼痛との関連が示唆された。そこで各種細胞特異的にCreリコンビナーゼを発現するCreドライバマウスをRosa-tdTomatoまたはRosa-EYFPマウスと交配し、各種細胞をそれぞれ蛍光標識し、神経障害性疼痛モデルマウスの脊髄組織切片を作製し、共焦点ライブイメージング解析を用いて細胞の挙動をリアルタイムで追跡することにより、ニューロン・グリア細胞間相互作用に基づいた新しい痛みの評価系の樹立を試みた。

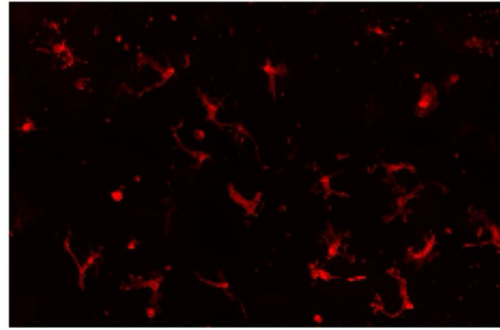
3) 痛みを制御するアンドロゲンの標的細胞と細胞内シグナル経路の同定

アンドロゲン受容体(AR)の核局在に基づくアンドロゲンシグナルの活性化を検討したところ、神経障害性疼痛モデルマウスの脊髄後角においてARは発現していた。脊髄後角においてCreを発現するマウスとAR^{flox/flox}マウスを交配して細胞特異的AR欠損マウスを作製し、行動解析、及び免疫組織化学染色によりアンドロゲンの標的細胞の同定を試みた。さらにRNA-seq解析によってアンドロゲン依存性の疼痛調節シグナル経路の同定を試みた。

4. 研究成果

種々の慢性疼痛モデルマウスにおいて、アンドロゲンによる疼痛抑制効果を検証した。その結

果、アンドロゲンによって顕著な改善効果が認められる慢性疼痛モデルは、坐骨神経結紮による神経障害性疼痛モデルであることがわかった。グリア細胞特異的 Cre ドライバーマウスを Rosa-tdTomato または Rosa-EYFP マウスと交配し、各種細胞をそれぞれ蛍光標識した神経障害性疼痛モデルマウスの脊髄組織切片を作製し、ライブセルイメージングの条件検討を行った。その結果、神経障害によるグリア細胞の活性化をライブで観察することに成功した。これまで痛みに伴うグリア細胞の形態的特徴は、組織切片による免疫組織化学染色により定義されてきたが、本培養系を用いることにより痛みに伴うグリア細胞をライブで追跡することが可能になった（右図）。



マウス脊髄組織におけるグリア細胞の可視化

痛み制御に関わる細胞特異的なアンドロゲンレセプター (AR) のノックアウトマウスを作製し、坐骨神経結紮による神経障害性疼痛モデル解析から、アンドロゲンシグナルが疼痛制御に関わることを明らかにした。アンドロゲンの下流で機能する痛み制御因子を同定するため、マウス脊髄組織を用いて RNA-seq 解析を行い、雄において痛みの発症に伴い発現が変化する因子を同定することができた。

リアルタイム qPCR による遺伝子発現解析から、アンドロゲンによりその発現が制御されている可能性を見出した。さらに候補因子の痛み制御における意義を検証するための細胞株等を用いた評価系及びマウス脊髄組織からグリア細胞を単離する方法を確立することができた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計17件（うち査読付論文 17件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Saika F, Fukazawa Y, Hatano Y, Kishioka S, Hino Y, Hino S, Suzuki K, Kiguchi N.	4. 巻 in press
2. 論文標題 Sexually dimorphic effects of pexidartinib on nerve injury-induced neuropathic pain in mice.	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Glia	6. 最初と最後の頁 eCollection
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/glia.24535	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Hosoi H, Tabata S, Kosako H, Hori Y, Okamura T, Yamashita Y, Fujimoto K, Kajioka D, Suzuki K, Osato M, Yamada G, Sonoki T.	4. 巻 21:100451
2. 論文標題 IGLL5 controlled by super-enhancer affects cell survival and MYC expression in mature B-cell lymphoma.	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Leuk Res Rep.	6. 最初と最後の頁 eCollection
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.lrr.2024.100451.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Hashimoto D, Fujimoto K, Kim SW, Lee YS, Nakata M, Suzuki K, Wada Y, Asamura S, Yamada G.	4. 巻 22(1)
2. 論文標題 Emerging structural and pathological analyses on the erectile organ, corpus cavernous containing sinusoids.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Reprod Med Biol.	6. 最初と最後の頁 e12539
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/rmb2.12539.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Hyuga T, Fujimoto K, Hashimoto D, Tanabe K, Kubo T, Nakamura S, Ueda Y, Fujita-Jimbo E, Muramatsu K, Suzuki K, Osaka H, Asamura S, Moriya K, Nakai H, Yamada G.	4. 巻 13(1)
2. 論文標題 Wound healing responses of urinary extravasation after urethral injury.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 eCollection
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-023-37610-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tanaka K, Matsumaru D, Suzuki K, Yamada G, Miyagawa S.	4. 巻 65(2)
2. 論文標題 The role of p63 in embryonic external genitalia outgrowth in mice.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Dev Growth Differ.	6. 最初と最後の頁 132-140
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/dgd.12840	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Alcantara MC, Suzuki K, Acebedo AR, Kajioka D, Hirohata S, Kaisho T, Hatano Y, Yamagata K, Takahashi S, Yamada G.	4. 巻 25(12)
2. 論文標題 Androgen-regulated MafB drives cell migration via MMP11-dependent extracellular matrix remodeling in mice.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 iScience.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2022.105609	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ueno K, Saika S, Okada Y, Iwanishi H, Suzuki K, Yamada G, Asamura S.	4. 巻 in press
2. 論文標題 Impaired healing of cutaneous wound in a Trpv1 deficient mouse.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Exp Anim.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1538/expanim.22-0124	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Fujimoto K, Hashimoto D, Kashimada K, Kumegawa S, Ueda Y, Hyuga T, Hirashima T, Inoue N, Suzuki K, Hara I, Asamura S, Yamada G.	4. 巻 10
2. 論文標題 A visualization system for erectile vascular dynamics.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 A visualization system for erectile vascular dynamics.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fcell.2022.1000342	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Murata S, Yamanaka M, Taniguchi W, Kajioka D, Suzuki K, Yamada G, Okada Y, Saika S, Yamada H.	4. 巻 31
2. 論文標題 Lack of transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1) retards cutaneous wound healing in mice: A preliminary study.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Rep.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrep.2022.101322	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Acebedo AR, Alcantara MC, Nakanishi T, Ogawa T, Yamada G, Suzuki K.	4. 巻 190(1)
2. 論文標題 Exposure to the Organophosphate Pesticide Fenitrothion Directly Induced Defects in Mouse Embryonic External Genitalia.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Toxicol Sci.	6. 最初と最後の頁 13-22
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/toxsci/kfac085.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hashimoto D, Fujimoto K, Morioka S, Ayabe S, Kataoka T, Fukumura R, Ueda Y, Kajimoto M, Hyuga T, Suzuki K, Hara I, Asamura S, Wakana S, Yoshiki A, Gondo Y, Tamura M, Sasaki T, Yamada G.	4. 巻 21(1)
2. 論文標題 Establishment of mouse line showing inducible priapism-like phenotypes.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Reprod Med Biol.	6. 最初と最後の頁 e12472
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/rmb2.12472.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ueda Y, Suzuki K, Kajimoto M, Fujimoto K, Mahendroo M, Ema M, Yamada G, Hara I.	4. 巻 71(4)
2. 論文標題 Possible testosterone redundancy for 5 α -dihydrotestosterone in the masculinization of mouse external genitalia.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Exp Anim.	6. 最初と最後の頁 451-459
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1538/expanim.22-0038	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hashimoto D, Colet JGR, Murashima A, Fujimoto K, Ueda Y, Suzuki K, Hyuga T, Hemmi H, Kaisho T, Takahashi S, Takahama Y, Yamada G.	4. 巻 11(1)
2. 論文標題 Radiation inducible MafB gene is required for thymic regeneration.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 10439
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-89836-7.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Alcantara MC, Suzuki K, Acebedo AR, Sakamoto Y, Nishita M, Minami Y, Kikuchi A, Yamada G.	4. 巻 61(6)
2. 論文標題 Stage-dependent function of Wnt5a during male external genitalia development.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Congenit Anom (Kyoto).	6. 最初と最後の頁 212-219
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cga.12438.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kumegawa S, Yamada G, Hashimoto D, Hirashima T, Kajimoto M, Isono K, Fujimoto K, Suzuki K, Uemura K, Ema M, Asamura S.	4. 巻 23(1)
2. 論文標題 Development of Surgical and Visualization Procedures to Analyze Vasculatures by Mouse Tail Edema Model.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biol Proced Online.	6. 最初と最後の頁 21
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12575-021-00159-3.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Stancampiano MR, Suzuki K, O'Toole S, Russo G, Yamada G, Faisal Ahmed S	4. 巻 6(2)
2. 論文標題 Congenital Micropenis: Etiology And Management.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Endocr Soc.	6. 最初と最後の頁 eCollection
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1210/jendso/bvab172.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Kajimoto M, Suzuki K, Ueda Y, Fujimoto K, Takeo T, Nakagata N, Hyuga T, Isono K, Yamada G.	4. 巻 62(3)
2. 論文標題 Androgen/Wnt/ -catenin signal axis augments cell proliferation of the mouse erectile tissue, corpus cavernosum.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Congenit Anom (Kyoto).	6. 最初と最後の頁 123-133
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cga.12465.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 鈴木堅太郎、雑賀 史浩、波多野裕、深澤 洋滋、岸岡史郎、日野信次朗、木口倫一
2. 発表標題 神経障害性疼痛に対するpexidartinib(PLX3397)の性差効果
3. 学会等名 第17回日本性差医学・医療学会学術集会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 鈴木堅太郎
2. 発表標題 外生殖器の性差が形成される仕組み -器官形成から性の多様性を考える-
3. 学会等名 第7回ART JAPAN生殖医療研究会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 鈴木堅太郎
2. 発表標題 アンドロロジー学を知る-外生殖器研究からの挑戦-
3. 学会等名 日本アンドロロジー学会第41回学術大会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 鈴木堅太郎、梶岡大暉、上田裕子、藤本幸太、山田源
2. 発表標題 外生殖器形成過程における遺伝子発現性差形成機構の解明
3. 学会等名 日本アンドロロジー学会第41回学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 鈴木 堅太郎, アルカンタラ メリッサ, アセバドアルピン, 坂本裕樹, 西田満, 南康博, 菊池章, 山田源
2. 発表標題 マウス尿道形成過程における新たなWnt5aの機能
3. 学会等名 第61回日本先天異常学会学術集会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	木口 倫一 (Kiguchi Norikazu) (90433341)	和歌山県立医科大学・薬学部・准教授 (24701)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------